

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

²⁶
PATENTSCHRIFT

(19) **DD** (11) **248 433 A1**

4(51) G 01 N 21/64
G 01 N 33/483

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP G 01 N / 269 567 2	(22)	16.11.84	(44)	05.08.87
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	Humboldt-Universität zu Berlin, Direktorat für Forschung, 1080 Berlin, Unter den Linden 6, DD
(72)	Koepp, Reinhold, Dr. rer. nat. Dipl.-Phys.; Senoner, Mathias, Dr. rer. nat. Dipl.-Phys.; Kutscher, Joachim, Dipl.-Phys.; Schönborn, Hans-Jürgen, Dr. rer. nat. Dipl.-Biophys.; Voigt, Joachim, Doz. Dr. sc. nat. Dipl.-Phys.; Matschke, Jürgen, Dr. sc. Dipl.-Landw.-Phys., DD

(54) **Optisches Verfahren zum Nachweis von Schädigungen des Photosyntheseapparates**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis von Schädigungen des Photosyntheseapparates und kann insbesondere zur Beurteilung der Einwirkung von biologischen, chemischen und physikalischen Streßfaktoren genutzt werden. Das erfindungsgemäße Verfahren kann in der Land- und Forstwirtschaft und im Gartenbau sowie im Umweltschutz angewendet werden. Aufgabe der Erfindung ist die Entwicklung eines Verfahrens zum Nachweis von Schädigungen des Photosyntheseapparates unter Ausnutzung der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß die Induktionskurve der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz zum Nachweis von Schädigungen am Photosyntheseapparat ausgenutzt wird. Dabei werden die Induktionskurven geschädigter Pflanzen mit denen ungeschädigter Pflanzen verglichen.

ISSN 0433-6461

4 Seiten

Patentansprüche:

1. Optisches Verfahren zum Nachweis von Schädigungen des Photosyntheseapparates durch Messung der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz, dadurch gekennzeichnet, daß die Intensität der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz als Funktion der Zeit ab Beginn einer Belichtung nach einer Dunkelpphase an einer zu untersuchenden Pflanze gemessen, und diese Kurve mit einer Kurve für ungeschädigte Pflanzen verglichen wird und die Abweichung als Maß für die Schädigung genommen wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die folgenden Kurvenmerkmale zum Vergleich benutzt werden: Höhe des Maximums, Verhältnis der Höhe des Maximums zur Höhe des stationären Niveaus und zeitliche Lage des Maximums.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die in Anspruch 2 genannten Merkmale als Funktion der Länge der Dunkelpphase zum Nachweis der Schädigung genutzt werden.

Hierzu 1 Seite Zeichnung

Anwendungsgebiete der Erfindung

Das erfindungsgemäße Verfahren kann vorteilhaft zur Beurteilung der Einwirkung von biologischen, chemischen und physikalischen Streßfaktoren genutzt werden. Maßnahmen zur Abwendung eines sonst eintretenden Schadens können bei Benutzung dieses Verfahrens rechtzeitig eingeleitet werden. Das erfindungsgemäße optische Verfahren ist beispielsweise zum Nachweis von Schädigungen des Photosyntheseapparates grüner Pflanzen durch

- Pflanzenschädlinge (Virusbefall)
- Agrarchemikalien
- Frost
- energiereiche Strahlungen (z. B. UV-, Röntgen-, γ -Strahlung)
- Hitze
- Wasser- oder Nährstoffmangel
- schädigende Gase wie CO, SO₂, nitrose Gase

geeignet.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann genutzt werden zur

- rechtzeitigen Einleitung der Schädlingsbekämpfung
- richtigen Dosierung von Agrochemikalien (z. B. von Herbiziden).

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Zur Beurteilung der Funktionsfähigkeit des Photosyntheseapparates wurden bisher fast ausschließlich Gaswechsellmessungen durchgeführt, wobei in einem abgeschlossenen Kreislauf die CO₂-Konzentration gemessen und der CO₂-Verbrauch als Maß für die Photosyntheseaktivität benutzt wird oder mittels Clarkelektrode die Sauerstoffproduktion als Maß für die Photosyntheseaktivität bestimmt wird. Beide Verfahren erfordern einen geschlossenen Kreislauf mit kontrollierter Gasatmosphäre. Die Pflanzen oder abgeschnittene Pflanzenteile müssen zur Messung in diesen eingebracht werden. Bei modernen Verfahren zur Beurteilung der Wirkung von Herbiziden werden auf komplizierte Weise Chloroplastenpräparationen aus grünen Pflanzen hergestellt und in biochemische Ansätze mit künstlichen Elektronendonatoren oder Elektronenakzeptoren eingebracht, in denen dann die Elektronentransportkapazität bestimmt wird /U. Metzger, Untersuchung des photosynthetischen Elektronentransportes isolierter Chloroplasten. Probleme der Ermittlung des Wirkungsmechanismus potentieller Herbizide, Dissertation B, Halle 1981/. In den letzten Jahren entwickelte Verfahren, durch stundenlanges Erfassen des Lumineszenzlichtes eine Schädigung von Pflanzen nachzuweisen /J. L. Ellenson, R. G. Amundson, Delayed light imaging for the early detection of plant stress, Science 215, 1104-1106 (1982) und R. Blaich, O. Bachmann, I. Baumberger, Studies of photosynthesis inhibition by phytoluminography, Z. Naturf. 37c, 452-457 (1982)/ sind apparativ und die Versuchszeit betreffend sehr aufwendig.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung einer empfindlichen Nachweismethode für Schädigungen des Photosyntheseapparates unter Ausschaltung vorgenannter Nachteile wie hoher apparativer Aufwand und geringe Nachweisempfindlichkeit.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Aufgabe der Erfindung ist die Entwicklung eines optischen Verfahrens zum Nachweis von Schädigungen des Photosyntheseapparates unter Ausnutzung der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß die Induktionskurve der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz zum Nachweis von Schädigungen am Photosyntheseapparat ausgenutzt wird. Es wurde gefunden, daß anhand der Induktionskurven der verzögerten

Chlorophyllfluoreszenz Schädigungen nachgewiesen werden konnten, die um ein Vielfaches unter denen liegen, die durch prompte Fluoreszenzmessungen nachweisbar sind. Der Nachweis der Schädigung erfolgt durch Vergleich der Induktionskurve der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz der zu untersuchenden Pflanzen mit einer entsprechenden Kurve für ungeschädigte Pflanzen oder einer aus Erfahrung gewonnenen Normalkurve (im weiteren werden diese beiden Kurven als Kontrollkurve bezeichnet). Dabei wird folgendermaßen vorgegangen:

1. Es wird die Induktionskurve der verzögerten Chlorophyllfluoreszenz an der zu untersuchenden Pflanze (Probenkurve) gemessen, z. B. unter Benutzung der in der Arbeit /R. Koepp, M. Senoner, K. Zacharczuk, F. Mir, Induktionskurven der verzögerten Fluoreszenz von Maisblättern (Zea mays), Coll. Pflanzenphysiologie 5, 115-117 (1982)/ beschriebenen Anordnung.
2. Die Probenkurve wird mit der Kontrollkurve verglichen. Zum Nachweis deutlicher Schädigungen reicht der Vergleich des Verhältnisses von maximaler zu stationärer Fluoreszenzintensität der Probenkurve mit dem der Normalkurve aus. Sollen Schädigungen nachgewiesen werden, die sehr schwach, vorübergehend wirksam oder im Anfangsstadium wenig ausgeprägt sind, so können weitere Unterschiede zwischen Probenkurve und Kontrollkurve herangezogen werden, beispielsweise Unterschiede
 - in der zeitlichen Lage der Maxima,
 - in der zeitlichen Verschiebung des Maximums mit veränderter Dunkelzeit vor Einschalten des Lichtes oder
 - in der Höhe des Maximums in Abhängigkeit von der Dunkelzeit vor Einschalten des Lichtes.

Der Vergleich von Probenkurve und Kontrollkurve kann bei Pflanzen in gut charakterisiertem physiologischem Zustand automatisch erfolgen und zur Selektion von ungeschädigten oder in gewünschtem Grade geschädigten Pflanzen genutzt werden, z. B. in automatischen Sortieranlagen.

Der Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens gegenüber den herkömmlichen besteht darin, daß eine abgeschlossene und kontrollierte Gasatmosphäre nicht erforderlich ist. Es kann unmittelbar am Blatt in vivo gemessen werden. Es ist lediglich notwendig, daß sich die grünen Pflanzen bzw. Pflanzenteile, an denen das erfindungsgemäße Verfahren angewendet wird, kontrolliert im Dunkel befinden.

Das erfinderische Verfahren besitzt eine hohe Nachweisempfindlichkeit. So kann z.B. eine Hemmung des Photosyntheseapparates durch DCMU durch das erfindungsgemäße Verfahren schon bei Konzentrationen nachgewiesen werden, die um Größenordnungen unter denen liegen, die mit anderen Verfahren erkannt werden. Auch die Einwirkung von UV- und γ -Strahlung auf Pflanzen kann durch das erfindungsgemäße Verfahren bereits bei geringerem Schädigungsgrad festgestellt werden.

Zusammenfassend hat das erfinderische Verfahren folgende Vorteile:

- eine hohe Nachweisempfindlichkeit;
- der geringe Arbeitszeitaufwand zur Messung einer Probe;
- die Möglichkeit, an der lebenden Pflanze zu messen ohne diese zu verletzen und
- die Möglichkeit, mit nur einer Größe die Schädigung von Pflanzen zu charakterisieren und damit das erfindungsgemäße Verfahren zu einer automatischen Selektion von Pflanzen mit dem gewünschten Schädigungsgrad zu nutzen.

Die Erfindung soll anhand des nachstehenden Ausführungsbeispiels näher erläutert werden:

Ausführungsbeispiel

Mit einem Becquerel-Phosphoroskop (eine neuere Ausführung wird von R. Koepp, F. Mir, M. Senoner und K. Zacharczuk, Mitteilungen der Akad. d. Landwirtschaftswissenschaften, 1982, beschrieben) wird die Induktionskurve der verzögerten Fluoreszenz für ungeschädigte (1) und geschädigte Pflanzen gemessen.

Als Beispiel gibt Fig. 1 diese Kurven für Maisblätter, die durch ultraviolette Strahlung geschädigt wurden, an. Der Vergleich der Kurven für die geschädigten Objekte (2) mit denjenigen für ungeschädigte (1) kann vorteilhaft auf folgende Art und Weise erfolgen:

- Entnahme der Werte: maximale Fluoreszenz L_{max} (Maximum der Kurve (1) bzw. (2) in Fig. 1) und stationäre Fluoreszenz L_{stat} .
- Bildung des Verhältnisses $(L_{max} - L_{stat})/L_{stat} = V$. Der Quotient V_1/V_2 ist ein Maß für die Schädigung.
- Die Bestimmung von V kann bei Prüfung weniger Objekte manuell vorgenommen werden. Soll eine große Pflanzenanzahl erfaßt werden, kann das Schädigungsmaß durch digitale Meßwertverarbeitung auch automatisch bestimmt werden.

